DOI:10.11931/guihaia.gxzw201809031

罂粟体内蒂巴因变化规律及水氮耦合对蒂巴因的影响[1]

常　瑛[1,3], 李彦荣[1,2*], 陈　芳[1,3], 张兆萍[1,2], 魏玉杰[1,2,3], 王军强[1,3]

（1. 甘肃省农业工程技术研究院，甘肃 武威 733006；

2. 国家中药材产业体系河西综合试验站，甘肃 武威 733006；

3. 甘肃省特种药源植物种质创新与安全利用重点实验室，甘肃，武威 733006）

摘要：采用 HPLC 法，分析测定一年生罂粟植株体开花后不同生育期根、茎、叶、果壳中蒂巴因含量变化，通过研究罂粟体内蒂巴因的变化规律和水氮耦合对蒂巴因的影响，为合理开发和管理这一特种药源植物提供依据。结果显示：一年生罂粟植株体蒂巴因含量的变化范围在果壳中为 1.81%～4.54%，成熟期达到最高；叶片中为 0.30%～0.68%，膨大后期最高，采收期最低；根中为 0.03～0.28%，膨大前期最高，采收期最低；茎秆中为 0.23%～0.60%，呈递减趋势，采收期最低，茎上、中、下部的蒂巴因含量的变化范围分别为 0.42%～0.97%、0.15%～0.60%、0.13%～0.37%。滴灌量和施氮量对一年生罂粟果壳中蒂巴因含量的影响差异显著。罂粟壳质量最佳的水氮偶合条件为 $I_{130}N_{14}$，即滴灌量为 130 m^3·(667 ㎡)$^{-1}$，施氮量为 14 kg·(667 ㎡)$^{-1}$时，蒂巴因含量达最高。

关键词：罂粟，蒂巴因，变化规律，水氮耦合，影响

中图分类号：S365　　　文献标识码：A　　　文章编号：201809031

Changes of thebaine in poppy (*Papaver somniferum*) and water-nitrogen coupling patterns effects

CHANG Ying[1,3], LI Yanrong[1,2*],CHENG Fang[1,3], ZHANG Zhaoping[1,2] ,WEI Yujie[1,2],WANG Junqiang[1,3]

(1. *Gansu academy of agri-engineering technology*, Wuwei, 733006，Gansu，China;
2. *Hexi Comprehensive Experimental Station of Industrial System for National Chinese Herbal Medicine*, Wuwei, 733006，Gansu，China; 3. *Gansu Key Laboratory of Plant Germplasm Innovation and Safety Utilization of Special Drug Sources*, Wuwei, 733006，Gansu，China）

Abstract: The HPLC was used to determine the contents of thebaine in roots, stems, leaves and shells of different growth stages after annual poppy flowering, to provide basis for the rational development and management of this special medicinal plant through studying the changes of thebaine in poppy and water-nitrogen coupling patterns effects under drip irrigation.The results showed that the content of thebaine in annual poppy shell is 1.81%-4.54%, and the highest in maturity. the leaf was 0.30%-0.68%, the highest in the late period of expansion and the lowest in the harvesting period. The root was 0.03-0.28%, the highest in the early period of expansion and the lowest in the harvesting period.The stem was 0.23%-0.60%, showing a decreasing trend and the lowest in harvesting period, The content of thebaine in the upper, middle and lower parts of the stem was 0.42%-0.97%, 0.15%-0.60% and 0.13%-0.37%, respectively. The quantity of drip irrigation and nitrogen fertilization significantly effect the thebaine content in annual poppy. The best water-nitrogen coupling conditions for thebaine content in annual poppy shells is $I_{130}N_{14}$，The thebain content was the highest when the nitrogen application were 14 kg· (667 m^2)$^{-1}$ and the drip irrigation amount was 130 m^3· (667 m^2)$^{-1}$.

Key words: poppy, thebaine, law of change, water-nitrogen coupling, effect

---

基金项目：国家自然科学基金 (31160303)[Supported by the National Natural Science Foundation of China (31160303)]。
作者简介：常瑛（1966-），女，甘肃通渭人，农艺师，研究方向为药用作物栽培，（E-mail）285137120@qq.com。
***通信作者：**李彦荣，学士，研究员，研究方向为药用作物栽培，（E-mail）gsllyryr@163.com。

罂粟（*Papaver somniferum* L.）是罂粟科植物，又名鸦片、大烟，一年生或多年生草本植物（国家药典委员会，2000），是一种特殊的药源植物，从其乳汁和果壳可提取吗啡(morphine，$C_{17}H_{19}NO_3$)、蒂巴因(thebaine，$C_{19}H_{21}NO_3$)、可卡因(cocaine，$C_{17}H_{21}NO_4$)、可待因(codeine，$C_{18}H_{21}NO_3$)、那可丁(noscapine，$C_{22}H_{23}NO_7$)、罂粟碱（papaverine，$C_{20}H_{21}NO_4$）等20多种生物碱（李彦荣等，2012）。吗啡是罂粟植物的主要生物碱，具有镇痛、镇静、止咳、止泻、通便的药用作用，但吗啡的成瘾性很强，社会危害性很大，海洛因、杜冷丁、美沙酮等都是吗啡的衍生物。蒂巴因是一种鸦片类异喹啉族生物碱，是一些药物合成中的重要中间体（霍秀敏，1999），由蒂巴因可制得丁丙诺啡、纳络酮、纳布啡和埃托啡等药物。丁丙诺啡等蒂巴因衍生物，与吗啡和美沙酮相比更为安全可靠，既能有效治疗阿片类物质依赖，较好地抑制阿片类成瘾者戒断症状的出现，又能进一步防止其滥用药物（邢静静等，2015），是一种较理想的戒毒治疗药物。在戒毒治疗的临床应用中可以完全替代海洛因和美沙酮而不出现戒断症状。我国主要培育的罂粟植物按所含生物碱成份分为两类，一类为生物碱主成份是吗啡，如白花罂粟（*Papaver somniferum* L.），相关科研人员就其种子活力（李彦荣等，2012；常瑛等，2010）、不同部位的吗啡含量（雒淑珍等，2012）以及吗啡与栽培措施的关系（王军强等，2010）进行了相关研究；另一类为生物碱主成份是蒂巴因，如多年生的红花罂粟（*Papaver orientale* L.），相关人员已对蒂巴因分析方法（霍秀敏，1999；宋小兰等，2005）和花粉萌发（魏玉杰等，2009）进行了研究，但对一年生罂粟材料体内蒂巴因含量的变化规律和栽培却未有涉及。本试验通过对一年生罂粟材料开花后地上不同器官蒂巴因含量的动态变化及不同水氮措施对蒂巴因含量的影响研究，为合理开发和管理这一特种药源植物提供依据。

1　试验设计与方法

1.1 试验地概况

试验区处于平原和沙漠戈壁边缘交汇地带，属大陆性温带干旱气候。试验区地下水位100 m，年降雨量220 mm，年蒸发量3000 mm左右，年日照时数2915.1 h，无霜期167 d，土壤为石灰性灌漠土，有机质1.20%，全氮0.15%，碱解氮82 mg·kg^{-1}，速效磷49 mg·kg^{-1}，速效钾371 mg·kg^{-1}，0～20 cm的耕层土壤容重1.23～1.33 g·(cm^3)$^{-1}$，田间最大含水量30.2%。

1.2　试验设计

试验采用裂区设计，设滴灌量(I)和施氮量（N）2个因素，滴灌量作为主区，施氮量为副区。主区设3个滴灌水平，全生育期滴水量分别为I_{90}（90 m^3·(667 m^2)$^{-1}$（135 mm）、I_{110}（110 m^3·(667 m^2)$^{-1}$（165 mm）和I_{130}（130 m^3·(667 m^2)$^{-1}$（195 mm)；副区设4 个施氮水平，分别为N_8、N_{11}、N_{14}、N_{17}(施纯氮分别为8 kg、11 kg、14 kg、17 kg·(667 m^2)$^{-1}$，共12个处理。3重复，小区面积为32 m^2，小区间距1 m，随机排列。为了消减小区之间的水分侧向渗透和氮素的移动，各处理间设置 1 m 的走道。灌溉水源为自来水，灌水量由小区进口处水表计量控制。

试验采用膜下滴灌方式进行，140 cm 宽地膜覆盖，膜面宽度 120 cm，行距配置为宽窄行 30/15 cm，株距 12.7 cm，种植密度为 18 900 穴·(667 m^2)$^{-1}$。滴灌系统支管直径 40mm，滴灌带直径 16.0mm，滴头流量 2.8 L·h^{-1}，滴头间距 30cm，滴灌带（一膜两管）铺设在两宽行中间，田间滴灌带间距 45 cm(图 1)。

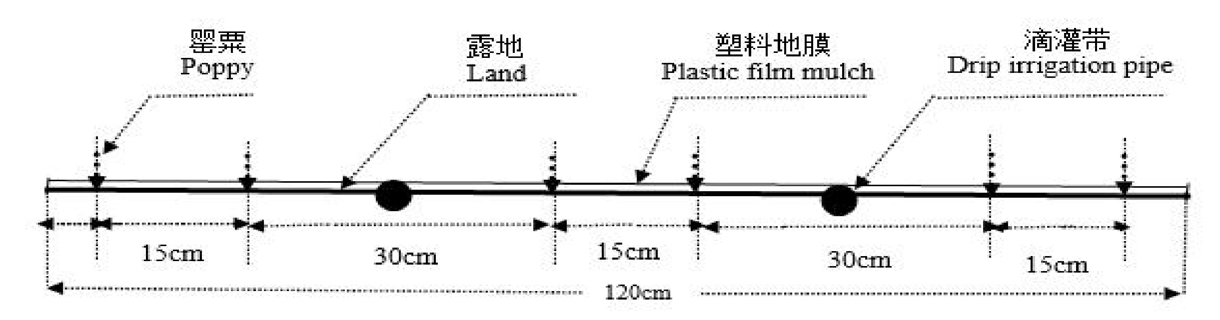


图 1　种植模式与滴灌带布置示意图

Fig.1　Cultivation mode of poppy and drip irrigation pipe installation

具体滴灌方案如表 1 所示。各处理的氮肥 5 kg·(667 m^2)$^{-1}$与 10 kg P_2O_5·(667 m^2)$^{-1}$的磷肥及 5 kg·(667 m^2)$^{-1}$的钾肥(k_2O)，在播前一次性施入作基肥；剩余的氮肥按 4:2:4 分别在抽苔期、开花期和膨大前期分 3

次随水滴施。

表 1　滴灌方案

Table 1　Program of drip irrigation

滴灌时间 Drip irrigation time		滴灌量[$m^3\cdot(667\ m^2)^{-1}$ (mm)] Quantities of drip irrigation		
日期 Date(m.d)	生育期 Growth period	I 90	I 110	I 130
5.21	抽苔期 Peduncle growth	20 (30)	20 (30)	20 (30)
5.28	现蕾期 Squaring period	20 (30)	30 (45)	40 (60)
6.12	开花期 Flowering stage	15 (22)	20 (30)	25 (37)
6.24	落花期 Falling blooming period	15 (22)	20 (30)	25 (37)
7.7	膨大期 Expanding stage	20 (30)	20 (30)	20 (30)
合计 Total		90 (135)	110 (165)	130 (195)

1.3 仪器与试剂

仪器：美国 Waters 991 高效液相色谱仪，486 紫外检测器，固相小柱(C8，250 mg)由天津市窝集科技有限公司生产，MILLENNIUM 数据处理软件

试剂：蒂巴因对照品购自国家药品生物制品检定所；乙腈、甲醇均为色谱纯；磷酸二氢钾、庚烷磺酸钠均为分析纯；蒸馏水(实验室自制)。

1.4 色谱条件

色谱柱：Hypersill　C18(5 μm，4.6 nm×250 nm)，辛烷基硅烷键合硅胶为填充剂；流动相：磷酸二氢钾(0.025 $mol\cdot L^{-1}$):庚烷磺酸钠(0.0025 $mol\cdot L^{-1}$):乙腈= 1:1:1.5 (体积比)；流速：1.0 $ml\cdot min^{-1}$；检测波长：254 nm；进样量：10 μL。

1.5 方法

1.5.1　水层厚度、水的体积

为确定灌水量，一般需要表明所涉及土壤面积和土层厚度，在不标明土壤厚度时，通常指 1 米土深。计算公式：

水的体积[$m^3\cdot(667\ m^2)^{-1}$] ＝水层厚度(H，mm)×0.667

1.5.2　取样及蒂巴因测定

各处理在采收期，摘取朔果，剔除种子，选取混合果壳样，并选取N_{14} I_{110}处理，从开花期开始，选取 6 个主要的生育时期，分别为开花期、落花期、膨大前期、膨大后期、成熟期和采收期，每一个时期各随机取样 10 株。取回样品分根、茎、叶、果壳四个部位；茎按三等份分茎上部、茎中部和茎下部；朔果破碎去籽留壳，分主果壳和分枝果壳。将取回的样品先风干，装入牛皮纸袋放入烘箱，在 60～70 ℃下烘干至恒重，称其干重，粉碎，　过 40 目筛后装于信封，编号后置于干燥通风处待测。

精密称取 0.2 g 样品，置于 200 ml 容量瓶中，加入 5%醋酸 50 mL，超声处理 30 min，取出冷却至室温，用 5%醋酸溶液定容至刻度，摇匀后用 0.45 μm 的滤膜滤过，精密吸取 10 μl，HPLC 分析测定蒂巴因含量。另做标样同法测定，按外标法以峰面积计算含量。

1.5.3　数据分析

所有数据采用 Excel 和 SPSS 17.0　统计软件进行分析处理。

2　结果与分析

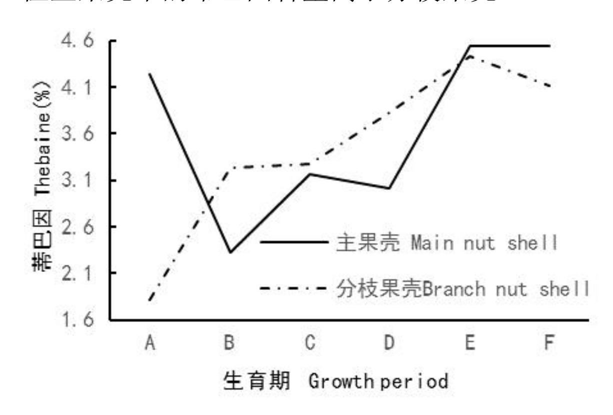
2.1　蒂巴因变化规律

罂粟开花后进入生殖生长期，期间蒂巴因主要分布在朔果中，其次是茎叶中，根中的蒂巴因含量最低，成熟期蒂巴因含量由高到低的顺序为果壳>叶>茎>根（图 2、图 3）。

2.1.1　果壳中蒂巴因含量的变化

由图 2 所示，不同时期罂粟果壳中的蒂巴因含量的变化范围为 1.81%～4.54%。落花期至成熟期，主

果壳中的蒂巴因含量低于分枝果壳，但在开花期和成熟期至采收期，主果壳中的蒂巴因含量高于分枝果壳。成熟期主果壳和分枝果壳中的蒂巴因含量均达到最高，分别为4.54%和4.43%，且成熟后，果壳中的蒂巴因含量均有所下降，但主果壳中的蒂巴因含量高于分枝果壳。



注：A. 开花期；B. 落花期；C. 膨大前期；D. 膨大后期；E. 成熟期；F. 采收期。

Note：**A.** Flowering stage；**B.** Falling blooming period；**C.** Expanding stage；**D.** Expanding stage；**E.** Mature period；**F.** Harvest time.

图 2　罂粟不同时期果壳中蒂巴因含量变化

Fig.2　Changes of thebaine in poppy shells at different time

主果壳中蒂巴因含量的变化范围为2.33%～4.54%，呈现“降-升-降”的趋势。落花期最低为2.33%，开花期和成熟期最高，分别为4.24%和4.54%；从开花期到落花期蒂巴因含量降低，而从落花期至成熟期蒂巴因含量逐渐升高，达到最高的4.54%，成熟后又有所降低。

分枝果壳中的蒂巴因含量呈现“升-降”的趋势，从开花期开始至成熟期，蒂巴因含量不断升高，由1.81%升至4.43%；但在成熟后与主果壳中的蒂巴因含量变化一样，有所降低。

2.1.2　根、叶中蒂巴因含量的变化

由图3可知，罂粟开花期至膨大前期，蒂巴因含量茎>叶>根，膨大前期至采收期，蒂巴因含量叶>茎>根。根中的蒂巴因含量变化范围为0.03%～0.28%，是所有器官中最低的。膨大前期达到最高，为0.28%，此后蒂巴因含量逐渐降低，采收期达到最低的0.03%；叶片中的蒂巴因含量前期（开花期～膨大后期）的呈递增趋势，膨大后期达到最高（0.68%）；后期（膨大后期～采收期）呈递减趋势，采收期达到最低（0.30%）。

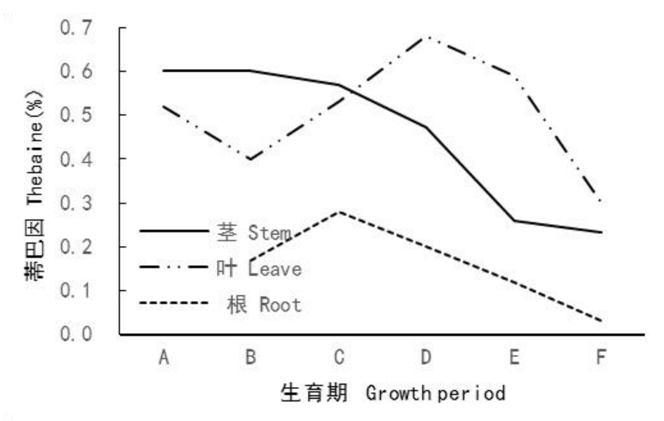


图 3　罂粟不同时期根、茎、叶中蒂巴因含量变化

Fig.3　Changes of thebaine in poppy roots, stems and leaves at different time

2.1.3　茎秆中不同部位蒂巴因含量的变化

茎秆中蒂巴因含量的变化范围为0.23%～0.60%，从开花期至采收期逐渐降低，呈递减趋势，采收期达到最低(图3)。茎秆不同部位的蒂巴因含量茎上部>茎中部>茎下部，茎上、中、下部蒂巴因含量的变化范围分别为0.42%～0.97%、0.15%～0.60%、0.13%～0.37%，且从开花期至采收期均呈下降趋势(图4)。

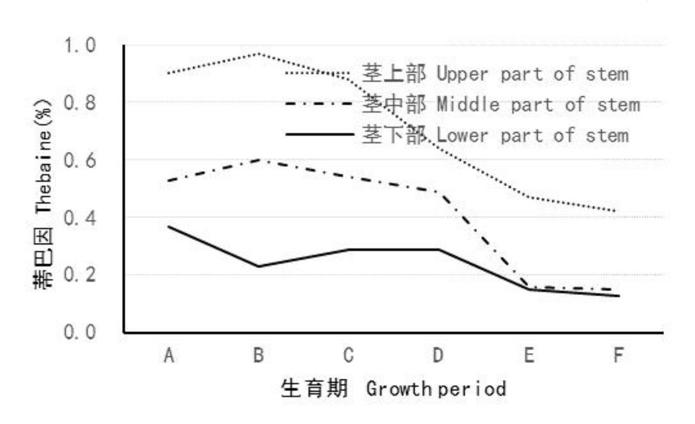
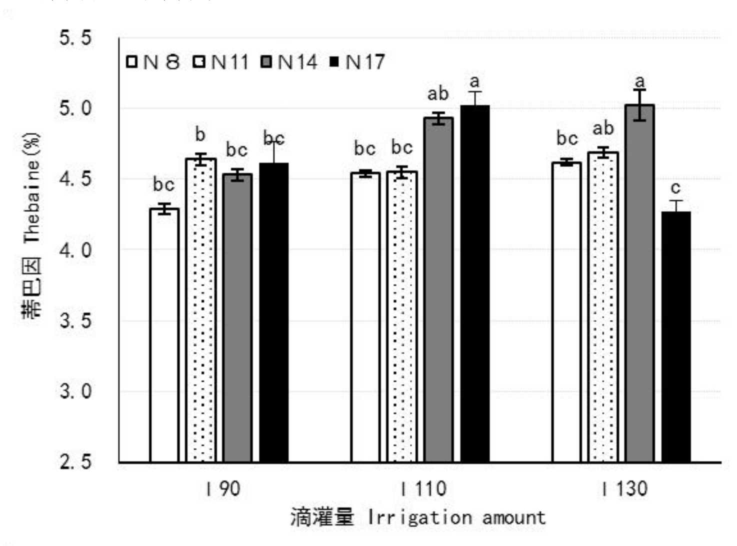


图4　罂粟不同时期茎秆不同部位蒂巴因含量变化

Fig.4　Changes of thebaine content in different parts of poppy stem at different times

2.2　不同水肥处理对罂粟壳蒂巴因的影响

罂粟的经济产品除籽外，主要是果壳，因此果壳中蒂巴因含量的高低，决定了其产品的质量高低。由图5看出，在施氮量8～14kg·(667 m^2)$^{-1}$时，罂粟果壳中蒂巴因含量随滴灌量的增加而增加，相同施氮的N_8条件下，即滴灌量由90m^3·(667 m^2)$^{-1}$提高到110 m^3·(667 m^2)$^{-1}$和130 m^3·(667 m^2)$^{-1}$时，蒂巴因含量由4.29%提高到4.54%和4.62%;在N_{14}条件下，滴灌量110方·(667 m^2)$^{-1}$时，蒂巴因含量最高，达到5.02%;在高N的N_{17}条件下，滴灌量为110 m^3·(667 m^2)$^{-1}$时蒂巴因含量最高，为5.02%，而滴灌量为130 m^3·(667 m^2)$^{-1}$时，蒂巴因含量反而降低，下降为4.27%。



注：I90、I110和I130分别表示滴灌量为90、110 和130m^3·(667 m^2)$^{-1}$；N8、N11、N14和N17分别表示施氮量为8、11、14和17 kg·(667 m^2)$^{-1}$。

Note: I90、I110 and I130 means Irrigation amount is 90、110 and 130m^3·(667 m^2)$^{-1}$，N8、N11、N14 and N17 means Nitrogen amount is 8、11、14 and 17 kg·(667 m^2)$^{-1}$.

图5　不同水肥处理对罂粟壳蒂巴因含量的影响

Fig.5　Effects of different water fertilizer treatment on the content of thebaine in Poppy Shell

在相同的滴灌条件下，滴灌量为110 m^3·(667 m^2)$^{-1}$（I_{110}）时，施氮量N_8、N_{11}、N_{14}和N_{17}的果壳蒂巴因含量分别为4.54%、4.55%、4.93%和5.02%；滴灌量为130 m^3·(667 m^2)$^{-1}$（I_{130}）时，施氮量N_8、N

$_{11}$、N_{14}和N_{17}的果壳蒂巴因含量分别为4.62%、4.69%、5.02%和4.27%。

经方差分析，处理间差异显著（图5）。主区I_{110}和I_{130}与I_{90}间差异显著，I_{90}处理的蒂巴因含量较低，I_{110}与I_{130}间差异不显著；副区N_8、N_{11}和N_{17}与N_{14}间差异显著，N_8、N_{11}和N_{17}间差异不显著；水氮交互作用明显，处理$I_{90}N_8$、$I_{90}N_{14}$、$I_{90}N_{17}$、$I_{110}N_8$和$I_{110}N_{11}$、$I_{130}N_8$间差异不显著，$I_{110}N_{14}$、$I_{110}N_{17}$、$I_{130}N_{11}$和$I_{130}N_{14}$间差异也不显著，但$I_{110}N_{17}$和$I_{130}N_{14}$与其它处理间差异显著，蒂巴因含量也最高，均达到5.02%。

因此，综合考量，罂粟壳质量最佳的水氮偶合条件为$I_{130}N_{14}$，即滴灌量为130 $m^3 \cdot (667\ m^2)^{-1}$，施氮量为14 $kg \cdot (667\ m^2)^{-1}$。

3 讨论与结论

多年生红花罂粟根、茎、叶、果壳中的蒂巴因含量分别为1.49%、0.55%、0.28%和1.80%，蒂巴因含量果壳中的最高，根次之，叶片中最低（霍秀敏，1999）。罂粟植株中吗啡含量依次为壳>叶>茎，罂粟壳中吗啡含量的变化范围为2.567 %～3.455 %，叶中为1.742%～2.653%，茎杆中为0.128%～0.467%（雒淑珍等，2012）。本研究一年生罂粟开花后不同生育期的根、茎、叶、果壳中，每个生育期中蒂巴因主要集中于果壳中，果壳中的蒂巴因含量最高，茎、叶的蒂巴因含量次之，根中的蒂巴因含量最低。蒂巴因主要富集于果壳中，蒂巴因含量最低部位在红花罂粟的叶片中，但在一年生罂粟中根的蒂巴因含量最低，这可能与品种特性，特别是红花罂粟是多年生，依靠根来延续植物生命，保持品种特性有关。

从开花期至成熟期，果壳的蒂巴因含量不断增加，成熟期达到最高；根和叶的蒂巴因含量在采收期降至最低，分别为0.03%（变幅为0.28%～0.03%）和0.30%（变幅为0.68%～0.30%）；茎中的蒂巴因含量不断下降，呈递减趋势，采收期达到最低，为0.23%，且在每个生育期茎秆不同部位的蒂巴因含量茎上部（0.97%～0.42%）>茎中部（0.60%～0.15%）>茎下部（0.37%～0.13%）。

罂粟植物的经济产品除种子外，主要是果壳，而且果壳中的生物碱含量多少决定了其产品的质量高低。成熟的多年生的红花罂粟植物果壳的蒂巴因含量，宋小兰等（2005）分析为2.534%～2.732%，霍秀敏（1999）分析为1.80%，本研究所涉及一年生的罂粟材料不同生育期中，成熟期主果壳和分枝果壳中的蒂巴因含量均达到最高，分别为4.54%和4.43%，含量明显高于多年生的红花罂粟，经济价值更高。

王军强等（2010）采用膜下滴灌方式探讨了水分调控对罂粟不同生育时期地上主要器官吗啡含量的影响，发现冬灌区现蕾期到盛花前期，随着灌水频率加大，罂粟壳中吗啡含量明显提高，盛花后期的连续灌水使罂粟壳中吗啡含量急剧下降。本研究所涉及一年生罂壳质量蒂巴因最佳的水氮偶合条件为滴灌量为130 $m^3 \cdot (667\ m^2)^{-1}$，施氮量为14 $kg \cdot (667\ m^2)^{-1}$。在施氮量8～14 $kg \cdot (667\ m^2)^{-1}$时，罂粟果壳中蒂巴因含量随滴灌量的增加而增加，在施氮量17 $kg \cdot (667\ m^2)^{-1}$时，滴灌量为110 $m^3 \cdot (667\ m^2)^{-1}$时蒂巴因含量最高。

参考文献:

CHANG Y, CHENG NN, LI YR, et al, 2010. Effects of salt stress on seed germination of two wild poppies[J]. Till Cult, (2):3-5. [常瑛，陈凌娜，李彦荣，等，2010. 盐胁迫对两种野罂粟种子萌发的影响[J]. 耕作与栽培，(2):3-5.]

HUO XM, 1999. Determination of thebaine in various tissues of *Papaver bracteatum* by gas chromatography [J]. Chin J Chromatogr, 17(1): 70-72. [霍秀敏，1999. 红花罂粟植物的各个部分中蒂巴因含量的测定[J]. 色谱，17(1):70-72.]

LI YR, CHANG Y, WEI YJ, et al, 2012. effects of temperature stress on germination and vitality of *Papaver somniferum* seeds[J]. Guihaia, 32(5):674-678. [李彦荣，常瑛，魏玉杰，等，2012. 温度胁迫对罂粟种子萌发影响及其活力变化规律的研究[J]. 广西植物，932(5): 674-678.]

LUO SZ, YU HX, ZHAO JR, et al, Determination of morphine content in different parts of poppy plant[J]. Trop Agric Eng, 36(6):4-7. [雒淑珍，于红霞，赵继荣，等，2012. 罂粟植株不同部位吗啡含量测试[J]. 热带农业工程，36(6):4-7.]

National Pharmacopoeia Committee, 2000. Pharmacopoeia of People's Republic of China [M].Beijing:

Chem Ind press: 302-303. [国家药典委员会，2000. 中华人民共和国药典[M]. 北京:化学工业出版社:302-303.]

SONG XL, LIU Q, 2005. Determination of thebaine in red poppy by high performance liquid chromatography [J]. Anal test Technol Instr, 11(2):146-148. [宋小兰，刘强，2005. HPLC法测定红花罂粟中蒂巴因的含量[J]. 分析测试技术与仪器，11(2):146-148.]

WANG JQ, HE QX, LEI YYH, et al, 2010. The Changes of Morphine Content in Opium Poppy under Different Irrigation[J]. Chin Agr Sci Bull, 26(9):156-161. [王军强，何庆祥，雷耀湖，等，2010. 不同灌水模式下罂粟吗啡含量的变化[J]. 中国农学通报，26(9):156-161.]

WEI YJ, ZHANG MX, CHANG Y, et al, 2009. A study on pollen germination of red poppy[J].J Shihezi Univ(Nat Sci Ed), 2009, 27(4):433-436. [魏玉杰，张梅秀，常瑛，等，2009. 红花罂粟花粉萌发的研究[J]. 石河子大学学报(自然科学版)，27(4):433-436.]

XING JJ, ZHOU XP, LI J, 2015. Research progress on treatment of opioid dependence with Buprenloxanone [J]. W Chin J Pharm Sci,(6):732-735. [邢静静，周晓波，李静，2015. 丁丙诺啡纳洛酮治疗阿片类物质依赖患者的研究进展[J]. 华西药学杂志，(6):732-735.]